

Trabajos Originales:

AISLAMIENTO DE ESPECIES DE *Pseudomonas* DE LAS LÍNEAS DE AGUA DE LAS UNIDADES ODONTOLÓGICAS

Recibido para arbitraje: 29/10/2008

Aceptado para publicación: 13/11/2008

Chacón Ch. Isvelia M.^a, Yépez G. Jenair del V.^a, Castillo C. José L.^b, Urdaneta P. Leonidas E.^c, Chidiak T. Soley^d, Jarpa R. Patricio J.^e y Ballester Lelisf.

Facultad de Odontología, Calle 23 entre avenidas 2 y 3, La Casona de La Sierra, Cátedra de Microbiología, Universidad de Los Andes (ULA), Mérida-Venezuela.

- a. Odontóloga egresada de la Facultad de Odontología-ULA (FOULA).
- b. Odontólogo, Profesor Asociado de la Cátedra de Cirugía Oral, FOULA. Miembro del Grupo de Investigación en Bioseguridad de la FOULA.
- c. MSc en Microbiología Clínica, Profesor Asistente de la Cátedra de Microbiología, FOULA. Miembro de la Sociedad Venezolana de Microbiología y del Grupo de Investigaciones Biopatológicas de la FOULA (GIBFO).
- d. Farmacéutica, Profesora Asistente de la Cátedra de Microbiología, FOULA. Miembro del GIBFO.
- e. MSc in Oral Sciences, Profesor Titular de la Cátedra de Histología, FOULA. Coordinador del GIBFO.
- f. Profesor Agregado de la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (FFB), ULA. Miembro de la Sociedad Venezolana de Microbiología.

RECONOCIMIENTO: Al personal del Laboratorio de Microbiología de los Alimentos "Dra. Cándida Díaz", Departamento de Microbiología, FFB-ULA, por su colaboración.

ABSTRACT

Several studies have reported a new way for infection in dentistry referred to dental unit waterlines. It has been described that water's hydrodynamics promotes the biofilm formation in those devices. Among other bacteria, *Pseudomonas aeruginosa* is one of the most common pathogens isolated from dental unit waterlines (75-100%) which can cause infection to humans with immune deficiencies. The dental units, at the service of integral adult attention, Faculty of Dentistry, University of Los Andes, Mérida-Venezuela, can have either external potable tap water supply or container devices. In both cases, the attachment of *Pseudomonas* species to biofilm could be considered for the inner surfaces of the waterlines. The aim of this study was to isolate *Pseudomonas* species from the dental unit waterlines and from the incoming potable tap water supply. Through a descriptive, non experimental, quantitative, cross-sectional study, 25 samples of water leaving from dental units and incoming from potable water supply were evaluated using microbiological analysis. The presence of *P. aeruginosa* and *P. fluorescens*, among other pathogens to human, was demonstrated in the water from 3-in-1 syringe, turbine and external water supply. These results indicate a high risk of cross-infection due to deficiencies in sanitary requirements for potable water used in dental procedures.

Key words: waterlines, dental units, *Pseudomonas*, biofilms.

RESUMEN

Numerosas investigaciones reportan una nueva forma de contaminación en odontología, referida a las líneas de agua de la unidad dental. Se ha descrito que la hidrodinamia del agua promueve la formación de biopelículas en estos aditamentos. Entre las bacterias frecuentemente recuperadas a partir de biopelículas en las líneas de agua de la unidad dental, *Pseudomonas aeruginosa* está presente en 75-100% de los casos, siendo importante fuente de infección para individuos inmunosuprimidos. La Clínica Integral del Adulto de la Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela, cuenta con unidades odontológicas surtidas con agua proveniente del suministro externo y unidades con depósitos de agua anexos, sitios que constituyen un reservorio ideal para la formación de biopelículas que alojen especies de *Pseudomonas*. El presente estudio tuvo como propósito aislar especies de *Pseudomonas* a partir de 25 muestras de agua provenientes de las líneas de agua y suministros externos de unidades odontológicas en la Clínica Integral del Adulto, para lo cual se desarrolló una investigación descriptiva no experimental de corte transversal y cuantitativa. Las muestras fueron recolectadas y sometidas a estudios microbiológicos. Los resultados demostraron la presencia de *P. aeruginosa* y *P. fluorescens*, entre otros microorganismos patógenos al ser humano, en el agua proveniente de la jeringa triple, la turbina y el suministro externo, situación que refleja un incremento del riesgo de contaminación cruzada por deficiencia en los estándares del agua a ser utilizada para fines odontológicos.

Palabras clave: Líneas de agua, unidades dentales, *Pseudomonas*, biopelículas.

INTRODUCCIÓN

El control de infección constituye un procedimiento de gran importancia en el consultorio odontológico. A tal efecto, se han establecido diversas medidas para reducir el riesgo de infección, entre ellas la esterilización y desinfección del instrumental odontológico, el manejo y recolección de residuos contaminados, el control del ambiente odontológico y las consideraciones acerca de la calidad del agua, las líneas de agua de la unidad dental y la formación de biopelículas (1).

En las dos últimas décadas se han reportado nuevas formas de contaminación en el área odontológica, concernientes a las líneas de agua de la unidad dental (2-6). Los aditamentos y piezas de mano tales como la turbina, la jeringa triple, la escupidera y los medios ultrasónicos de limpieza son conectados a través de una red de tubos plásticos que distribuyen agua y aire para activarlos o refrigerarlos.

Barbeau (7) y Wirthlin et al. (8), afirman que la hidrodinamia de la columna de agua genera la precipitación de moléculas de agua y promueven la adherencia de microorganismos planctónicos que se convierten en organismos sésiles, cubiertos por exopolisacáridos insolubles que les protegen del arrastre mecánico, así como de la acción antimicrobiana por parte de diversos agentes (antibióticos y desinfectantes, entre otros). Esta consideración aunada a factores como temperaturas cálidas y momentos de inactividad de la unidad odontológica consolida la formación de biopelículas.

Los microorganismos desprendidos de la biopelícula, junto con los presentes en aerosoles provenientes del paciente pueden representar una flora bacteriana potencialmente perjudicial para aquellos individuos susceptibles.

Algunos patógenos humanos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Acanthamoeba* spp. pueden alojarse en la biopelícula (7). Entre ellos, *P. aeruginosa* representa entre 75 y 100% de la flora recuperada de las líneas de agua de las unidades odontológicas. Dicha bacteria puede causar enfermedad en individuos con defensas reducidas cuando se aloja en zonas como la mucosa y piel lesionada, generando cuadros de fiebre, shock, oliguria, leucocitosis o leucopenia, coagulación intravascular diseminada e inclusive síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto (9).

Considerando que, el odontólogo debe conocer las fuentes de contaminación cruzada existentes en su

consultorio así como las normas de bioseguridad existentes, con la finalidad de tomar medidas para su prevención y control; y, asumiendo un escaso conocimiento de estos profesionales al respecto, aunado a las características del suministro de agua de las unidades odontológicas y de afluencia de pacientes en la Clínica Integral del Adulto de la Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes, la presente investigación tuvo como propósito evaluar la presencia de especies de *Pseudomonas* en las líneas de agua de unidades odontológicas, para lo cual se estudiaron las características microbiológicas de las muestras de agua provenientes de las piezas de mano y de los suministros externos, después de la jornada de trabajo clínico por tres semanas consecutivas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Haciendo uso de un muestreo probabilístico y posterior a la jornada de trabajo, se recolectaron 25 muestras de agua a partir de las piezas de mano (10 muestras combinando agua proveniente de la jeringa triple y de la turbina), los contenedores de agua anexos (5 muestras) y las fuentes de suministro externo (10 muestras), obtenidas a partir de las unidades odontológicas de la Clínica Integral del Adulto, Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Previa desinfección de las salidas de agua con alcohol isopropílico al 70%, se dejó correr el agua por 30-40 segundos, procediendo a recolectar 500 ml en frascos de vidrio estériles con tapa de rosca, conteniendo 0,5 ml de tiosulfato de sodio al 3% para neutralizar el cloro residual (10). En todos los casos se procuró minimizar la producción de aerosoles y se evitó el contacto entre el aditamento y el contenedor. Las muestras fueron transportadas en cavas refrigeradas y procesadas de inmediato en el Laboratorio de Microbiología de los Alimentos "Dra. Cándida Díaz" (Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes).

Para la determinación de *Pseudomonas* en agua se utilizó la técnica recomendada por la Asociación Americana de Salud Pública (APHA por sus siglas en inglés) (10), inoculando las muestras en Caldo Asparagina, e incubando a 37°C por 24-48 horas. Posteriormente, se evaluó la presencia de turbidez y se determinó la presencia de signos de fluorescencia (producción de pigmentos pioverdina y piocianina) haciendo uso de una lámpara de luz negra. Los cultivos con crecimiento bacteriano y fluorescencia positiva, fueron transferidos a Agar Cetrimida, e incubados por 24-48 horas a 37°C, con la finalidad de observar el crecimiento y cuantificar las unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml). Las colonias aisladas fueron sometidas a pruebas de identificación bioquímica, utilizando los protocolos convencionales para la identificación de bacilos no fermentadores. La identificación positiva de la presencia de *Pseudomonas*, se fundamentó en las características claves del grupo fluorescente propuestas por Koneman et al. (11).

Así mismo, a todas las muestras de agua recolectadas se les determinó la calidad microbiológica a través de las pruebas para determinación de coliformes fecales en Caldo Lauryl-Sulfato (37°C por 24-48 horas) y el método propuesto por la Administración de Alimentos y Drogas (FDA por sus siglas en inglés) para la cuantificación de bacterias aerobias mesófilas descrito por Maturin y Peeler (12).

Los resultados fueron comparados con los parámetros de la Agencia de Protección Ambiental (EPA por sus siglas en inglés) tomados de Yáñez et al. (13) y de la Asociación Dental Americana (ADA), así como las consideraciones de calidad del agua de la Universidad del Estado de Ohio (14) y de la Compañía de Aguas de Mérida (15). Los datos fueron graficados mediante el programa Microsoft Office Excel 2007.

RESULTADOS

Se realizó una recolección de muestras en igualdad de condiciones físico-ambientales. Las muestras fueron identificadas según su procedencia (unidad y dispositivo o salida externa) (Tabla 1).

El 100% de las muestras recolectadas resultaron con crecimiento bacteriano positivo en Caldo Asparagina; detectándose fluorescencia en 56% de ellas (14 muestras). Por su parte, la determinación de crecimiento en Agar Cetrimida resultó positiva para 01 JT (7 UFC/ml), 07 JT (1 UFC/ml) y 10 MIB1 (>

300 UFC/ml), lo cual representa el 12% de las muestras estudiadas (Tabla 2).

Las bacterias recuperadas de las muestras con crecimiento positivo en Agar Cetrimida (1 JT, 7 JT y 10 MIB1) fueron identificadas como *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *Flavobacterium odoratum*, *Moraxella lacunata* y *Burkholderia cepacia*.

En cuanto a la calidad microbiológica de las muestras de agua, se determinó ausencia de coliformes en todas las muestras y presencia de altas cargas de microorganismos mesófilos solo en el agua proveniente de jeringa triple/turbina y dispositivos contenedores (Tabla 3).

Con base en las pruebas para la cuantificación de mesófilos y el crecimiento en Agar Cetrimida, se observó contaminación bacteriana en 16 (64%) de las 25 muestras recolectadas (Tabla 4).

Tabla 1
Identificación de las muestras recolectadas.

| | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 01 JT (Unidad N° 8-Pared Este). | 14 JT (Unidad N° 5-Pared Oeste). |
| 02 JT (Unidad N° 15-Pared Oeste). | 15 DC (Unidad N° 5-Pared Oeste). |
| 03 DC (Unidad N° 15-Pared Oeste). | 16 JT (Unidad N° 9-Pared Este). |
| 04 JT (Unidad N° 10-Pared Oeste). | 17 JT (Unidad N° 19-Pared Oeste). |
| 05 DC (Unidad N° 10-Pared Oeste). | 18 DC (Unidad N° 19-Pared Oeste). |
| 06 JT (Unidad N° 1-Pared Este). | 19 JT (Unidad N° 16-Pared Oeste). |
| 07 JT (Unidad N° 14-Pared Oeste). | 20 JT (Unidad N° 7-Pared Este). |
| 08 DC (Unidad N° 14-Pared Oeste). | 21 MIA2 |
| 09 MIA1 | 22 MIB2 |
| 10 MIB1 | 23 PA2 |
| 11 PA1 | 24 PB2 |
| 12 PB1 | 25 E2 |
| 13 E1 | |

JT: Pool de Agua proveniente de jeringa triple y turbina; DC: Agua en dispositivos contenedores adicionales de la Unidad odontológica; MIA, MIB: Agua proveniente de las salidas externas del mesón izquierdo (pared oeste) de la sala clínica; PA, PB: Agua proveniente de las salidas externas de los lavamanos de pared; E: Agua proveniente de la salida externa del mesón ubicado en la entrada de la sala clínica.

Fuente: Propia.

Tabla 2
Búsqueda de Pseudomonas en las muestras de agua.

| Prueba realizada | | Nº de Muestras positivas | % | Nº de Muestras negativas | % | Total de muestras | % |
|---|------------------------|--------------------------|-----|--------------------------|----|-------------------|-----|
| Prueba presuntiva Caldo Asparagina | Crecimiento (turbidez) | 25 | 100 | 0 | 0 | 25 | 100 |
| | Fluorescencia | 14 | 56 | 11 | 44 | 25 | 100 |
| Prueba confirmativa (Crecimiento en Agar Cetrimida) | | 3 | 12 | 22 | 88 | 25 | 100 |

Fuente: Propia

Tabla 3
Evaluación de la calidad microbiológica del agua.

| FUENTE DE AGUA | Nº DE MUESTRAS | CRECIMIENTO DE COLIFORMES EN CALDO LAURYL SULFATO ($\bar{X} \pm 1DE$) | CRECIMIENTO DE MESÓFILOS EN AGAR PLATE COUNT ($\bar{X} \pm 1DE$) |
|---------------------------|----------------|---|--|
| Jeringa triple/turbina | 10 | - | 213 \pm 126,6 UFC/ml |
| Dispositivos contenedores | 5 | - | 638 \pm 100,5 UFC/ml |
| Suministro externo | 10 | - | - |

Fuente: Propia

Tabla 4
Contaminación bacteriana del grupo de muestras.

| Parámetro evaluado | Nº de muestras positivas | % | Nº de muestras negativas | % | Total de muestras | % |
|-----------------------------------|--------------------------|----|--------------------------|----|-------------------|-----|
| Contaminación bacteriana del agua | 16 | 64 | 9 | 36 | 25 | 100 |

Fuente: Propia.

DISCUSIÓN

Según Mills (3), el agua de las unidades odontológicas utilizada para irrigar la cavidad bucal de los pacientes durante la atención clínica, debería cumplir con los parámetros de aceptabilidad del agua potable para consumo humano. En este sentido, los resultados del presente estudio demostraron la posibilidad de recuperar *P. aeruginosa* a partir de una muestra proveniente del suministro externo y *P. fluorescens* en una muestra de jeringa triple/turbina. Pankhurst y Coulter (16) señalan que *P. aeruginosa* es un colonizador frecuente de las líneas de agua de la unidad dental; y aún cuando la cepa recuperada en nuestro estudio provenía del suministro externo, podría colonizar el sistema de irrigación de la unidad. Sacchetti et al. (17) recuperaron *P. aeruginosa* de una muestra del surtidor externo, lo cual coincide con nuestro hallazgo. Es importante señalar que, esta bacteria es considerada patógena oportunista y representa un factor de riesgo importante para el personal y los pacientes odontológicos. A éste respecto, Mills (18) reporta dos casos de infección por *P. aeruginosa* luego del tratamiento dental de rutina en pacientes que recibían quimioterapia. Por su parte, la Asociación Dental Americana (19) realizó un estudio en el año 1974 en el cual se analizó la flora nasal de 30 odontólogos, resultando 9 de ellos portadores de las mismas especies de *Pseudomonas* que habían sido aisladas a partir del agua de las unidades dentales seleccionadas en dicha investigación. Por consiguiente, el agua de consumo en nuestra población puede considerarse como microbiológicamente no segura y sugiere la posible fuente de infección concerniente a las líneas de agua de la unidad dental. La factibilidad de recuperar este tipo de bacterias, a partir de muestras del suministro externo, puede estar dada por el hecho de que *P. aeruginosa*, entre otros microorganismos, pueden tener mecanismos de transmisión hídrica y tolerar las condiciones nutricionales limitadas de este vehículo, así como por su capacidad de formar biopelículas. En este mismo orden de ideas, las pruebas concernientes a potabilidad del agua y las medidas aplicadas por la compañía surtidora para garantizar su calidad microbiológica, no permiten la identificación de estos patógenos ni la eliminación total de los mismos, lo cual puede deberse a los grandes volúmenes de agua manejados que limitarían la posibilidad de detectar con facilidad estos contaminantes y su erradicación. Diversas organizaciones y autores como la ADA (19), Muñoz et al. (20) y Kohn et al. (1), coinciden en afirmar que la contaminación bacteriana de las líneas de agua de la unidad odontológica puede provenir del suministro público.

Otros microorganismos recuperados en el presente estudio fueron *F. odoratum*, *M. lacunata* y *B. cepacia* a partir de dos muestras provenientes del agua de jeringa triple/turbina. Investigadores como Uzel et al. (21), Szymańska (22) y Sacchetti et al. (17) también identificaron, en las líneas de agua de la unidad dental, la presencia de *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *B. cepacia*, *M. lacunata* y *F. indologenes*, coincidiendo con la alta frecuencia de bacterias gram negativas no fermentadoras. Esta situación debe llamar a la adopción y aplicación de medidas de bioseguridad más estrictas, debido a que dichos microorganismos pueden ser patógenos oportunistas, tal como lo reporta Mills (18) en un caso de endocarditis por *Moraxella* en un paciente tratado odontológicamente.

En el presente estudio, también se determinó la calidad microbiológica del agua proveniente de las fuentes de distribución externa, así como de la jeringa triple, turbina y contenedores anexos, a través de las pruebas de crecimiento de coliformes y mesófilos en Caldo Lauryl Sulfato y Agar Plate Count, respectivamente. En 64% de las muestras de jeringa triple, turbina y dispositivos contenedores se evidenció crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos, con valores que oscilaron entre 213 y 638 UFC/ml, los cuales exceden los estándares establecidos tanto por la EPA (500 UFC/ml), como por la ADA (200 UFC/ml) y la compañía de Aguas de Mérida (0 UFC/ml) (19, 15). Al-Hiyasat et al. (23) también reportaron elevados niveles de contaminación bacteriana de las muestras de agua examinadas en su estudio (86,7%), porcentaje que no está muy lejano de lo observado en nuestros resultados, de lo cual se deduce que el agua no cumple con los estándares recomendados para el uso en procedimientos odontológicos.

Aun cuando resulta difícil determinar la fuente primaria de contaminación de las líneas de agua en las unidades odontológicas, se podría sugerir que sea la red de suministro externa, la cual, sin demostrar una contaminación elevada puede garantizar la llegada, en pequeñas proporciones pero de manera continua, de estos microorganismos a las unidades dentales. Esto, aunado al tiempo de inactividad de las mismas, favorecería el depósito y multiplicación de las bacterias en estos sistemas, incrementando la contaminación y dificultando su control por los mecanismos de mantenimiento aplicados. En este sentido, como fuente secundaria se puede considerar el intercambio de aerosoles contaminados provenientes de la cavidad bucal de los pacientes, los cuales, junto con el personal odontológico, pueden ser portadores de especies bacterianas sin evidencia clínica. Por otra parte, el manejo inadecuado de los recipientes contenedores de agua y las maniobras de reparación y mantenimiento de las unidades odontológicas por personas portadoras de infección, pueden representar un riesgo añadido.

Resulta recomendable seguir y evaluar permanentemente los parámetros propuestos por la Organización para los Procedimientos de Seguridad y Asepsia (24), los cuales señalan el uso de microfiltros, la purga de las líneas de agua y aire por 30 segundos entre pacientes y al finalizar el trabajo clínico, el empleo de agua destilada, hervida o filtrada y, el reemplazo rutinario y descontaminación de las líneas y los contenedores adicionales. Por consiguiente, se debe promover el desarrollo de programas educativos y de entrenamiento al personal odontológico, acerca de los riesgos y formas de contaminación existentes, las estrategias de prevención y las normas de bioseguridad.

CONCLUSIÓN

Especies de *Pseudomonas*, entre otras bacterias Gram negativas no fermentadoras, pueden ser aisladas con frecuencia a partir del agua utilizada en los sistemas de irrigación de la unidad dental, debido a que los parámetros de control microbiológico para el agua de consumo humano, proveniente del surtidor municipal, no garantizan la ausencia de este tipo de patógenos oportunistas, que podrían alcanzar niveles de colonización potencialmente riesgosos para el ser humano y generar un elevado riesgo de infecciones cruzadas en el ambiente odontológico. El presente estudio resalta la imperiosa necesidad de crear en el personal odontológico, desde etapas tempranas de su formación, una cultura de apego a los parámetros para procedimientos de seguridad y asepsia.

REFERENCIAS

1. Kohn W., Collins A., Cleveland J., Harte J., Eklund K. y Malvitz D. Guidelines for infection control in dental health-care settings. *MMWR*. 2003;19(52):RR-17.
2. Williams J., Johnston A., Johnson B., Huntington K. y Mackenzie, C. Microbial contamination of dental unit waterlines: prevalence, intensity and microbiological characteristics. *JADA*. 1993;124:59-65.
3. Mills S. The dental unit waterline controversy: defusing the myths, defining the solutions. *JADA*. 2000;131:1427-1441.
4. Putnins E., Di Giovanni D. y Bhullar A. Dental unit waterline contamination and its possible implications during periodontal surgery. *J Periodontol*. 2001;72(3):393-400.
5. Panagakos F., Lassiter T. y Kumar E. Dental unit waterlines: review and product evaluation. *General dentistry*. 2001;72:20-25.
6. Pederson E., Stone M., Ragain J. y Simecek J. Waterline biofilm and the dental treatment facility: a review. *General dentistry*. 2002;50:190-195.
7. Barbeau J. Waterborne biofilms and dentistry: The changing face of infection control. *J Can Dentl Assoc*. 2000;66:539-541.
8. Wirthlin M., Marshall G. y Rowland R. Formation and decontamination of biofilms in dental unit waterlines. *J Periodontol*. 2003;74(11):1595-1609.
9. Brooks G., Batel J. y Stephen M. *Microbiología médica*. 18a ed., México, El Manual Moderno, S.A. 2005.
10. Asociación Americana de Salud Pública (APHA): *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 18va ed., Washington. 2005.
11. Koneman E., Allen S., William J., Schereckenberger P. y Washington W. *Diagnóstico Microbiológico. Texto y Atlas a color*. 5ta ed., Madrid, Panamericana, S.A. 1999.
12. Maturin L. y Peeler J. *FDA Bacteriological analytical manual*. 8va ed. 1998.
13. Yáñez M., Barberá V. y Catalán V. Control de la contaminación microbiológica en unidades dentales. 2005, obtenible en *Gaceta Dental*: www.gacetadental.com/articulos.asp?aseccion=ciencia&aid=2&avol=200506 [consulta: 24 febrero 2007].
14. Universidad del Estado de Ohio. Nonpoint source assessment: User's guide to Ohio's Surface Waters. Bulletin 873-98. 2002, obtenible en: http://ohioline.osu.edu/b873/b873_8.html [consulta: 24 enero 2007].
15. Aguas de Mérida: Reporte de resultados de los análisis bacteriológicos y/o de cloro residual. Mérida, Venezuela, Aguas de Mérida. 2007.
16. Pankhurst C. y Coulter, W. Do contaminated dental unit waterlines pose a risk of infection?. *J*

Dent., 2007;35:712-720.

17. Sacchetti R., Baldissarri A., De Luca G., Lucca P., Stampi S. y Zanetti F. Microbial contamination in dental unit waterlines: comparison between ER:YAG laser and turbine lines. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2006;13:275-279.
18. Mills S. Waterborne pathogens and dental waterlines. *Dent Clin North Am.* 2003;47:545-557.
19. ADA Council on scientific affairs: Dental unit waterlines: Approaching the year 2000. *J Am Dent Assoc.* 1999;130:1653-1664.
20. Muñoz, J., Rubi, D. y Moreno, A.: Calidad bacteriológica del agua de una clínica odontológica rural de la facultad de odontología de la Universidad Autónoma de Zacatecas. *ADM.* 2002;59(2):50-57.
21. Uzel A., Cogulu D. y Oncag O. Microbiological evaluation and antibiotic susceptibility of dental unit water systems in general dental practice. *Int J Dent Hygiene.* 2008;6:43-47.
22. Szymańska J. Bacterial contamination of water in dental unit reservoirs. *Ann Agric Environ Med.* 2007;14:137-140.
23. Al-Hiyasat A., Ma'ayeh S., Hindiyeh M. y Khader Y. The presence of *Pseudomonas aeruginosa* in the dental unit waterline systems of teaching clinics. *Int J Dent Hygiene.* 2007;5(1):36-44.
24. Organization for Safety and Asepsis Procedures. Dental Unit Waterlines: Check Your Dental Unit Water IQ. 1997, obtenible en OSAP: www.osap.org/displaycommon.cfm?an=1&subarticlenbr=34 [consulta: 7 marzo 2007].